

# تأثیر درجه استخراج آرد و مدت زمان تخمیر بر کاهش آسپارژین آزاد در خمیر نان سنگک

حبیب واحدی<sup>a</sup>، محمد حسین عزیزی<sup>b\*</sup>، فرزاد کبارفرد<sup>c</sup>، محسن برزگر<sup>b</sup>، زهره حمیدی اصفهانی<sup>b</sup>،  
منوچهر حامدی<sup>d</sup>

<sup>a</sup> دانشجوی دکترای تخصصی تکنولوژی مواد غذایی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

<sup>b</sup> دانشیار دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده کشاورزی، گروه صنایع غذایی، تهران

<sup>c</sup> دانشیار دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دانشکده داروسازی، گروه شیمی دارویی، تهران

<sup>d</sup> استاد دانشگاه تهران، دانشکده کشاورزی، گروه صنایع غذایی، تهران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۴/۴

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۰/۹/۴

۱۲

## چکیده

**مقدمه:** اساساً آسپارژین آزاد موجود در آرد گندم، تأثیر گذارترین عامل تشکیل اکریل آمید، در نان شناخته شده است. اکریل آمید، یک مونومر سرطان زا بوده که در دماهای بالاتر از ۱۲۰ درجه سانتیگراد در محصولات غنی از کربوهیدرات همچون نان سنگک، ممکن است تا  $10000 \mu\text{g}/\text{kg}$  (و بالاتر تولید شود). با توجه به اهمیت تغذیه ای اکریل آمید، این مطالعه با هدف تأثیر درجه استخراج آرد و مدت زمان تخمیر بر کاهش آسپارژین آزاد در خمیر نان، در مقیاس صنعتی انجام شد.

**مواد و روش ها:** دو رقم گندم جهت تعیین مقادیر آسپارژین تهیه شد. از مخلوط گندم ها دو نوع آرد با درجه استخراج ۹۳ و ۸۲ درصد تولید، و میزان آسپارژین تعیین شد. سپس تأثیر زمان های مختلف تخمیر، بر کاهش آسپارژین در حضور شاهد بررسی شد. اندازه گیری آسپارژین آزاد با دستگاه HPLC، و تحلیل داده ها با آزمون تی، لون و من ویتنی انجام شد.

**یافته ها:** درجه استخراج آرد، زمان تخمیر به طور معنی داری بر میزان آسپارژین، اثر گذار است. اختلاف معنی داری بین میانگین آسپارژین گندم ها و آرد ها مشاهده شد ( $p < 0/001$ ). کاهش آسپارژین طی تخمیر در هر دو نوع خمیر، نسبت به شاهد به میزان ۹۰ درصد رسید، بین میانگین کاهش آسپارژین در هر دو نوع خمیر تفاوت معنی داری مشاهده نشد ( $p \geq 0/05$ ).

**نتیجه گیری:** بیشترین میزان آسپارژین در سبوس مشاهده شد. مناسب ترین زمان تخمیر جهت کاهش موثر آسپارژین آزاد در خمیر نان سنگک ۱۱۰ دقیقه می باشد.

**واژه های کلیدی:** آسپارژین آزاد، درجه استخراج، زمان تخمیر، HPLC

## مقدمه

بر اساس مطالعات انجام شده، می توان اظهار داشت که، اسپارژین آزاد موجود در آرد گندم، تأثیر گذارترین عامل برای تشکیل اکریل آمید در دماهای بالاتر از  $120^{\circ}\text{C}$  در فرآورده های غلات از جمله نان می باشد (Lingnert, 2002; Low, 2006; Tareke *et al.*, 2002). اکریل آمید از تراکم اسپارژین آزاد با قندها مخصوصا گلوکز و فروکتوز و سپس کاهش این ترکیب تراکمی، ایجاد می شود که این واکنش به واکنش میلارد معروف است (Stadler *et al.*, 2002). اکریل آمید در بدن انسان تجزیه می شود و ماده ای بنام گلاسید آمید را تولید می نماید که با اثر بر DNA و ایجاد جهش در ژن ها، باعث بروز سرطان و آسیب سیستم عصبی می شود (Richmond, 2007). اکریل آمید به واسطه اثرات کارسینوژنی، تضعیف سیستم ایمنی، تغییرات هورمونی استروژن، پروژسترون و ایجاد سرطان پستان، ابتلا به بیماری های عفونی، سرطان کلیه، مشکلات باروری، تصلب شرایین و بیماری های قلبی، به عنوان موضوع نوپدید از پژوهش، از آوریل سال ۲۰۰۲ در بحث های مربوط به سلامتی به طور جدی مورد توجه محققین قرار گرفته است (Mucci, 2003, 2005). برای اکریل آمید، به این دلیل که، حتی غلظت های کم آن، خطر آفرین و سرطان زا است هیچ حد ایمنی که از ایجاد سرطان جلوگیری نماید تعیین نشده است (Tareke *et al.*, 2002). محصولات آردی از جمله نان، بیسکوئیت و غلات صبحانه، از منابع مهم رژیمی دریافت مقادیر بالای اکریل آمید برای انسان هستند (Amrein & Vass, 2004; Claus, 2008; Swenson, 2003). لذا از آنجایی که تاکنون اکثر راهکارهای پیشنهادی برای کاهش اسپارژین آزاد در بخش کشاورزی (مبنی بر انتخاب مواد خام اولیه با اسپارژین و قند پائین) و تکنولوژیکی (مبنی بر تغییراتی در فرمولاسیون و فرآیند)، نتیجه بخش نبوده است، پژوهش حاضر بر اساس راهکارهای تدوین شده توسط سازمان کنفدراسیون صنایع غذایی و آشامیدنی اروپا در سال ۲۰۰۹، مبنی بر استفاده از فرآیند بیولوژیکی تخمیر مخمیری، برای کاهش اسپارژین آزاد در خمیر تدوین شد (CIAA, 2009). مطالعه ای که در مقیاس آزمایشگاهی و نیمه صنعتی انجام شد مشخص نمود که، میزان اسپارژین آزاد بعد از یک ساعت تخمیر از ۲/۴

میلی گرم به ۱/۱ میلی گرم رسید که این کاهش را به متابولیزه شدن اسپارژین آزاد توسط مخمر نانوائی نسبت داده اند (Claceys, 2005). لذا بر همین اساس پژوهش حاضر بدون هیچ گونه مداخله ای در تکنولوژی نانوائی، در مقیاس صنعتی برای اولین بار در ایران، در دانشگاه تربیت مدرس طی سال های ۸۸ تا ۹۰ طراحی و اجرا شد.

هدف از انجام این مطالعه بررسی تأثیر درجه استخراج آرد و مدت زمان تخمیر بر کاهش اسپارژین آزاد در خمیر نان بود. از نوآوری این پژوهش می توان، به کاهش اثر مضر تغذیه ای ناشی از سبوس بیشتر در آردهای با درجه استخراج ۹۳ درصد، نسبت به آردهای با درجه استخراج ۸۲ درصد، از طریق کاهش یا هیدرولیز اسپارژین آزاد در خمیر نان و جلوگیری از ایجاد بیماری های مرتبط با اکریل آمید، از جمله سرطان در جامعه اشاره نمود.

## مواد و روش ها

در این تحقیق تجربی، ابتدا دو رقم گندم از استان گلستان با قابلیت سطح کشت بالا، بنام رقم N-80-19 (رقم گندم کشت شده در شمال ایران در سال ۱۳۸۰ موجود در لاین ۱۹ پروژه تحقیقاتی ایستگاه بذر گندم استان گلستان) و رقم کوهدشت (K)، به دلیل دقت عمل بالا در کشت، فراوانی و سازگاری با آب و هوای شمال ایران، از ایستگاه تحقیقاتی بذر استان گلستان، تهیه شد. از مخلوط کردن دو رقم گندم به نسبت مساوی، دو نوع آرد با درجه استخراج ۹۳ و ۸۲ درصد، به روش صنعتی تولید شد. نمک طعام بدون ید محصول کارخانه نمک ایوانکی، مخمر فعال خشک ساکارومایسس سرویزیه محصول شرکت خمیرمایه ایران ملاس (Zamani, 2008)، سایر مواد شیمیایی لازم از شرکت مرک آلمان تهیه شد.

## - جدایی سبوس از آرد (آندوسپرم)

ابتدا رطوبت اولیه و سختی گندم ها به منظور تعیین رطوبت ثانویه، جهت عملیات نم زنی گندم ها تعیین شد. بعد از سپری شدن دوره استراحت گندم ها (۲۴ ساعت بعد) توسط آسیاب غلتکی کوآدرومات جونیور ساخت آلمان مدل Nr.279002 شماره E ۱۷۲۲، سبوس گندم ها از آرد (آندوسپرم) جدا شد، و سپس به منظور اندازه گیری اسپارژین آزاد، ۳۶ نمونه ی شامل؛ آرد کامل، سبوس و آرد

توسط HPLC مدل Agilent/1100 Series/ USA با تنظیماتی که در جدول ۱ آمده است اندازه‌گیری شده است.

(آندوسپریم)، از هر قسمت ۶ نمونه (Edoardo 2009; Fredriksson et al., 2004; Ono et al., 2003). از هر دو رقم گندم به روش نمونه‌برداری ربع کردن تهیه شد.

#### - بررسی تاثیر زمان‌های مختلف تخمیر بر میزان اسپارژین آزاد

ابتدا ۱۰۵ کیلوگرم آرد ۹۳ درصد استخراج به ۷ قسمت ۱۵ کیلویی تقسیم شد. مطابق فرمولاسیون تهیه خمیر نان سنگک بر مبنای وزن آرد، به ازاء هر صد گرم آرد؛ ۰/۵ درصد مخمر، ۸۵ درصد آب، نمک بدون ید یک درصد (Faridi & Finney, 1980)، با ثابت نگه داشتن سایر تنظیمات (درجه حرارت آب، آرد، زمان‌های اختلاط اولیه ۱۰ دقیقه و ثانویه ۵ دقیقه)، ۷ سری خمیر (a - e)، در شرایط معمول نانوائی سنگکی تهیه شد. سپس تاثیر تخمیر در مدت زمان‌های ۳۶۰، ۳۰۰، ۲۴۰، ۱۸۰، ۱۵۰، ۱۱۰ و صفر دقیقه بر میزان آبکافت اسپارژین آزاد، در خمیرها بررسی شد. بعد از پایان عمل تخمیر در زمان‌های تعیین شده، تعداد ۴۲ نمونه ی از ۷ سری خمیر، به صورت تصادفی، جهت تجزیه اسپارژین آزاد گرفته شد. سپس با تحلیل آماری داده ها و نتایج بدست آمده از تاثیر تخمیر در زمان‌های مختلف بر کاهش اسپارژین، به شرح آمده در نمودار ۳، زمان ۱۱۰ دقیقه، به عنوان مناسب ترین زمان، جهت نقطه پایانی ورآمدن خمیر و کاهش موثر اسپارژین در خمیر نان سنگک، انتخاب شد، چرا که: در زمان ۱۱۰ دقیقه، علائم ورآمدن خمیر هم علمی و هم تجربی، در تست‌های متوالی، کاملاً محرز مشاهده شد، و قابل توجه اینکه در مدت زمان ۱۱۰ دقیقه، اسپارژین به طرز معنی‌داری، نسبت به شاهد کاهش نشان داد، لذا زمان ۱۱۰ دقیقه از این جهت به عنوان مناسب ترین زمان پیشنهاد می‌شود که، حد اکثر زمان برای تخمیر مخمری ۱۲۰ دقیقه

#### - تهیه آرد

از مخلوط کردن دو نوع گندم به نسبت مساوی، دو نوع آرد با درجه استخراج ۹۳ و ۸۲ درصد تولید شد. سپس به روش نمونه‌گیری فرآیند ربع کردن ۱۲ نمونه از دو نوع آرد برای تعیین میزان اسپارژین آزاد گرفته شد.

#### - اندازه‌گیری اسپارژین آزاد توسط HPLC

ابتدا ۱ تا ۲ گرم از هر کدام از نمونه‌ها، توسط ترازو با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین، و به بالن ۱۰۰ میلی لیتری منتقل شد. سپس ۵۰ میلی لیتر آب مقطر به آن افزوده شد، و حدود ۱۵ الی ۳۰ دقیقه هم زده شد، و با آب به حجم رسانده شد، جهت مشتق سازی به ۰/۵ میلی لیتر محلول نمونه آماده شده، ۰/۵ میلی لیتر محلول بافر بورات ۰/۴ مولار در pH=۹/۵ و ۰/۴ میلی لیتر محلول اورتوفتالددید اضافه شد، و ۱ دقیقه و ۱۵ ثانیه سونیک شد. قبل از تزریق نمونه‌ها به HPLC، ابتدا محلول استاندارد اسپارژین آزاد به غلظت‌های (۵، ۲، ۱، ۰/۵) تهیه شد، سپس ۰/۱ میکروگرم/میلی لیتر، از هر کدام از غلظت‌های استاندارد اسپارژین آزاد تهیه شد، پس از مشتق سازی به HPLC، برای رسم منحنی درجه‌بندی، در دامنه خطی، تزریق شد. بعد از بدست آوردن شرایط استاندارد با استفاده از منحنی استاندارد خارجی و سطح زیر پیک نمونه، با استفاده از مدل برازش روش اندازه‌گیری اسپارژین آزاد  $y = 416/087x + 51/83, R2 = 99948, n = 4,$  [LR=0/5 - 5 ppm] غلظت اسپارژین آزاد در نمونه‌های مجهول تعیین شد، میزان اسپارژین آزاد موجود در نمونه‌ها

جدول ۱ - تنظیمات HPLC جهت اندازه‌گیری اسپارژین آزاد (Wang et al., 2008)

حلال: گرادینت	فاز: معکوس
آشکارساز: فلورسانس با طول موج های تحریک ۳۶۰ و نشر ۴۵۵ نانومتر	حجم تزریق: ۱۰ میکرولیتر
ستون: C <sub>18</sub> با طول ۲۵۰ میلی متر، دمای آون ستون ۳۰ درجه سانتی گراد و قطر داخلی ستون ۴/۶ میلی متر با ذرات پر کننده به قطر ۵ میکرون محصول شرکت (Waters, USA)	سرعت جریان فاز متحرک: ۱ میلی لیتر/دقیقه
Mobile Phase: Solvent A, B, gradient	
Gradient:	time
	۰ ۱۵ ۲۴ ۲۴/۰۱ ۴۰ ۴۰/۰۱ ۶۰ ۶۵ ۷۵
	B%
	۰ %۳۰ %۳۰ %۹۰ %۹۰ %۱۰۰ ۱۰۰ ۰ ۰

## یافته ها

نمودار ۱ بیانگر این است که، بین میانگین‌های اسپارژین آزاد در آرد کامل رقم N (۸/۴۱±۳۹/۱۵)، و آرد کامل رقم K (۱۱/۸۵±۹۳/۱۰۹۳)، اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ( $p < 0.001$ )، چرا که، با توجه به آماره F آزمون لون (۵/۹۱) با سطح معنی‌داری ( $p \leq 0.05$ )، داده‌ها با هم واریانس نمی‌باشند، و با توجه به آماره آزمون t (۲۵/۵۳ -)، با درجه آزادی (۵/۸۳) و سطح معنی‌داری ( $p < 0.001$ )، میانگین اسپارژین موجود در ارقام K و N، اختلاف معنی‌داری دارند، و میزان اسپارژین رقم N بیشتر از رقم K می‌باشد. همچنین با توجه به مقدار آماره F آزمون لون (۸/۱۲) و سطح معنی‌داری ( $p \leq 0.05$ )، داده‌ها در مورد سیوس دو رقم گندم با هم واریانس نمی‌باشند، لذا با توجه به مقدار آماره t (۲۱/۹۳ -)، و سطح معنی‌داری ( $p < 0.001$ )، میزان اسپارژین در سیوس رقم K و رقم N اختلاف معنی‌داری دارند، و میزان اسپارژین سیوس رقم N بیشتر از رقم K می‌باشد. همچنین با توجه به مقدار آماره F آزمون لون (۴/۴۶)، و سطح معنی‌داری ( $p \geq 0.05$ ) داده‌ها در آردهای (آندوسپرم) هر دو رقم گندم هم واریانس هستند، لذا با توجه به آماره t (۲۹/۲۶ -)، با درجه آزادی و سطح معنی‌داری ( $p < 0.001$ )، میزان اسپارژین موجود در آرد (آندوسپرم) هر دو رقم گندم، اختلاف معنی‌داری دارند، و میزان اسپارژین در آرد (آندوسپرم) رقم N بیش از رقم K می‌باشد. علاوه بر این اختلاف معنی‌داری بین میانگین‌های اسپارژین سیوس رقم K (۱۱/۸۵±۶۳/۹۵۶) و آرد (آندوسپرم) رقم K (۱۳۷/۰۵۸±۲/۰۶) مشاهده شد ( $p < 0.001$ )، و همچنین اختلاف معنی‌داری بین میانگین‌های اسپارژین سیوس رقم N (۱۳۴۸/۶۴±۴۲/۰۹۸) و آرد (آندوسپرم) رقم N (۱۹۱/۲۴±۴/۰۴) مشاهده شد ( $p < 0.001$ ).

نمودار ۲ نشان می‌دهد که درجه استخراج آرد به شکل معنی‌داری بر میزان اسپارژین اثر می‌گذارد و اختلاف معنی‌داری بین میانگین‌های مقدار اسپارژین در آرد ۸۲ درصد (۲۵/۵۱۴±۱۸۴/۹۵) و آرد ۹۳ درصد (۴۳۱/۵۵±۲۸/۵۷) در سطح ۹۵ درصد مشاهده شد ( $p < 0.001$ ).

نمودار ۳ بیانگر اثر تخمیر در زمان‌های مختلف بر میزان اسپارژین آزاد در شرایط نانویی سنگکی می‌باشد.

توصیه شده است (Fredriksson *et al.*, 2004). سپس بررسی تاثیر زمان تخمیر ۱۱۰ دقیقه بر کاهش اسپارژین آزاد در دو نوع خمیر انجام شد، جهت انجام این عمل ابتدا ۲۰۰ کیلوگرم از دو نوع آرد ۹۳ و ۸۲ درصد استخراج (از هر نوع آرد ۱۰۰ کیلوگرم)، برای تهیه دو نوع خمیر با مخمر و بدون مخمر (شاهد) تهیه شد، سپس ارزیابی تاثیر تخمیر در زمان ۱۱۰ دقیقه بر کاهش اسپارژین آزاد، روی دو نوع خمیر انجام شد. بعد از عمل تخمیر ۲۴ نمونه از دو نوع خمیر به طریق تصادفی جهت اندازه‌گیری اسپارژین آزاد گرفته شد.

## - اندازه‌گیری اسپارژین آزاد در خمیر

ابتدا نمونه‌های خمیر با سیستم خشک کن انجمادی در شرایط (خلأ کم تر از یک بار، دمای منهای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و زمان ۱۲ ساعت) رطوبت زدایی شدند، سپس ۰/۱ گرم از نمونه‌ها آرد شد، و بعد از انتقال به لوله فالکون ۱۵ میلی‌لیتری مدرج، به آن ۲ میلی‌لیتر محلول استونیتریل ۲۵ درصد در آب دو بار تقطیر شده، افزوده شد، مدت ۲۰ دقیقه در حمام اولتراسوند قرار داده شد، تا اسید آمینه‌های آزاد وارد فاز محلول شد. بعداً نمونه‌های حاصل از استخراج، مدت ۱۰ دقیقه با ۳۵۰۰ دور/دقیقه سانتریفوژ شد، برای مشتق‌سازی نمونه، ۲۵ میکرولیتر از محلول حاصل از استخراج و استانداردها را به میکروتیوب ۱/۵ میلی‌لیتری منتقل و ۳۰۰ میکرولیتر از محلول رسوب دهنده به آن افزوده شد، بعد از ۳۰ ثانیه ورتکس، ۱۰ دقیقه در ۱۱۰۰۰ دور/دقیقه سانتریفوژ شدند. فاز رویی جداسازی، و به آن ۳۰۰ میکرولیتر محلول مشتق ساز حاوی بافر بورات و عامل مشتق ساز اورتوفالدهید افزوده شد، و پس از مخلوط کردن به مدت ۵ دقیقه، ۱۰ میکرولیتر از هر کدام از نمونه‌ها جهت تجزیه اسپارژین آزاد به HPLC (Wang *et al.*, 2008) تزریق شد.

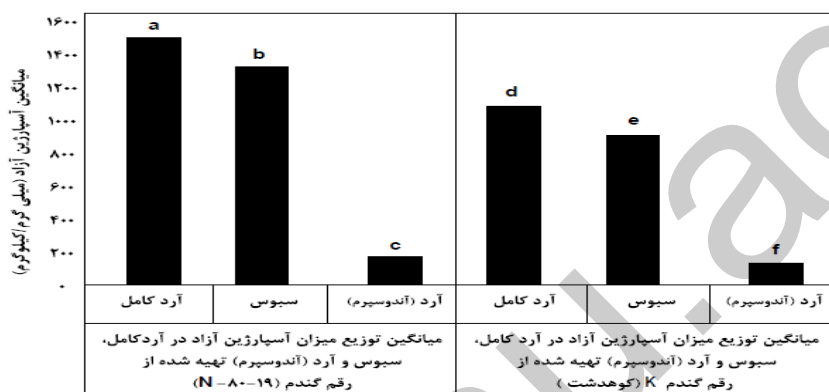
## - تجزیه و تحلیل آماری

تحلیل داده‌ها با آزمون‌های تی مستقل، لون، من‌ویتنی و تحلیل واریانس انجام شد. بدین منظور از نرم‌افزار SPSS، نسخه ۱۸ استفاده شد (میانگین‌ها حاصل تعداد نمونه‌های مستقل در هر مرحله می‌باشد).

نمی باشد، ولی نسبت به زمان‌های صفر، ۱۱۰، ۱۸۰، ۱۵۰ دقیقه معنی دار شد ( $p < 0.001$ ). کاهش اسپارژین بعد از زمان ۳۶۰ دقیقه نسبت به سایر زمان‌ها به طرز معنی‌دارتری مشاهده شد ( $p < 0.001$ ).

نمودار ۵ بیانگر تاثیر تخمیر در مدت زمان ۱۱۰ دقیقه، روی کاهش اسپارژین، با توجه به درجه استخراج آرد ها، در دو نوع خمیر، با حضور شاهد در سطح ۹۵ درصد می باشد ( $p \geq 0.05$ ).

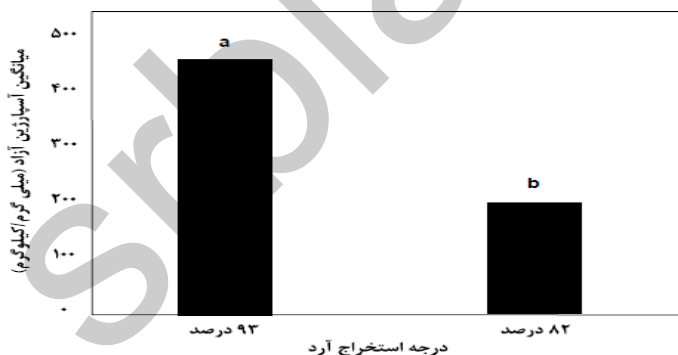
نمودار ۴ بیانگر تاثیر زمان های مختلف تخمیر مخمری بر کاهش اسپارژین آزاد می باشد و همان طوری که در نمودار مشاهده می شود کاهش اسپارژین بعد از زمان ۱۱۰ دقیقه، نسبت به زمان صفر (شاهد) به شکل معنی داری کاهش نشان داد ( $p < 0.001$ ). کاهش اسپارژین بعد از زمان های ۱۵۰ و ۱۸۰ دقیقه نسبت به یکدیگر معنی دار نبود، اما نسبت به زمان صفر (شاهد) و زمان ۱۱۰ دقیقه معنی‌دار مشاهده شد ( $p < 0.001$ ). کاهش اسپارژین بعد از زمان های ۲۴۰ و ۳۰۰ دقیقه نسبت به یکدیگر معنی دار



نمودار ۱- نمایش تاثیر رقم گندم بر میزان اسپارژین آزاد

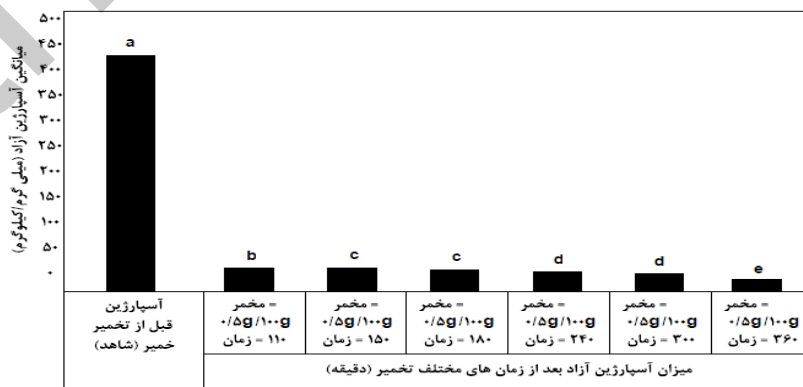
حروف مختلف نشان دهنده اختلاف معنی دار بین میانگین ها است

۱۷



نمودار ۲- نمایش تاثیر درجه استخراج آرد بر میزان اسپارژین آزاد

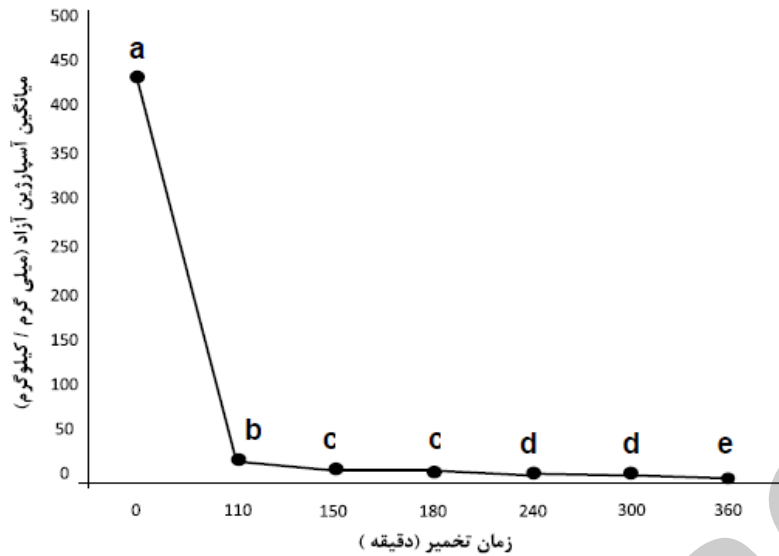
حروف مختلف نشان دهنده اختلاف معنی دار بین میانگین ها است



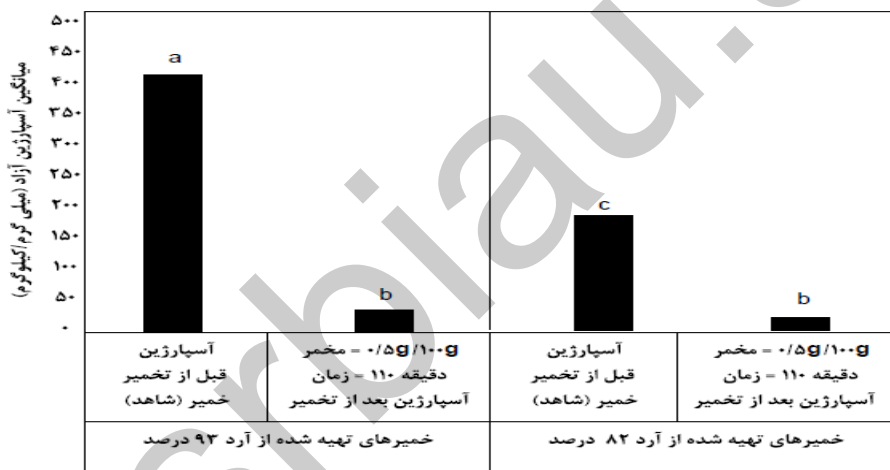
نمودار ۳- نمایش تاثیر زمان تخمیر بر کاهش اسپارژین آزاد در شرایط نانوائی

حروف مختلف نشان دهنده اختلاف معنی دار بین میانگین ها است

## تأثیر درجه استخراج آرد و مدت زمان تخمیر بر کاهش اسپارژین



نمودار ۴- نمایش روند کاهش اسپارژین طی عمل تخمیر، نسبت به زمان صفر (شاهد) حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی دار میانگین ها است.



نمودار ۵- نمایش تأثیر درجه استخراج و تخمیر بر کاهش اسپارژین آزاد حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی دار بین میانگین ها است

میزان اسپارژین آزاد در خمیر نان کم تر است، همسوئی دارد (Claus, 2006; Springer *et al.*, 2003). دیگر یافته تحقیق تأثیر مدت زمان تخمیر بر کاهش اسپارژین آزاد در خمیرهای تهیه شده از آرد ۹۳ درصد می باشد، بدین صورت که میزان اسپارژین آزاد در خمیر بدون مخمر (شاهد) در دقیقه صفر، بدون تغییر مشاهده شد، اما میزان کاهش اسپارژین، در شش سری خمیر دیگر (b - e)، نسبت به شاهد، بترتیب در دقیقه (۱۱۰) ۹۴ درصد، در دقایق (۱۵۰ و ۱۸۰) ۹۷ درصد، در دقایق (۲۴۰ و ۳۰۰) ۹۸ درصد و در دقیقه (۳۶۰) ۹۹ درصد مشاهده شد (نمودار ۳). که این نتیجه با نتایج حاصل از مطالعه

## بحث

با توجه به اینکه بین مقادیر میانگین اسپارژین آزاد، در آرد ۹۳ و ۸۲ درصد، اختلاف معنی داری مشاهده شد. پس می توان گفت که، درجه استخراج آرد، تأثیر مهمی بر میزان اسپارژین آزاد دارد، و میزان اسپارژین آزاد در آرد ۸۲ درصد به میزان ۶۲/۵ درصد کمتر از آرد ۹۳ درصد بود، که این نتیجه با نتایج مطالعه Springer و همکاران در سال ۲۰۰۳ و مطالعه Claus در سال ۲۰۰۶ مبنی بر اینکه هر چه درجه استخراج آرد بالاتر باشد، میزان سبوس آرد بیش تر است و در نتیجه میزان اسپارژین آزاد در خمیر نان افزایش می یابد، و هر چه درجه استخراج آرد پائین تر باشد،

مونوکلروپروپانودیول (MCPD) بعنوان مواد سرطان زای های ژنتیکی بالقوه می شود، همسوئی دارد (Claus, 2008; Fredriksson *et al.*, 2004; Hamlet & Sadd 2005). دیگر یافته پژوهش نشان داد، زمانی که از دو نوع آرد ۹۳ و ۸۲ درصد برای تهیه دو نوع خمیر استفاده شد، کاهش آسپارژین آزاد در هر دو نوع خمیر، ۹۰ درصد کاهش یافت، و از نظر آماری اختلاف معنی داری در میزان کاهش آسپارژین آزاد توسط مخمر نانوایی در دو نوع خمیر مشاهده نشد (نمودار ۵)، تحقیق مشابهی برای مقایسه یافت نشد.

### نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد، درجه استخراج آرد و زمان تخمیر یک تاثیر کاهشی معنی داری بر میزان آسپارژین آزاد دارند، هم چنین با توجه به درجه استخراج آرد ها، و نتایج بدست آمده از تاثیر زمان های مختلف تخمیر، روی کاهش آسپارژین، استفاده از زمان ۱۱۰ دقیقه، به عنوان مناسب ترین زمان جهت پایان عمل تخمیر و کاهش موثر آسپارژین آزاد در خمیر نان سنگک، توصیه می شود، ولی به لحاظ اینکه در صنایع نانوایی از گونه های مختلف مخمر ساکارومایسس سرویزیه برای عمل تخمیر استفاده می شود، و هم چنین مصرف آسپارژین آزاد توسط مخمر، ممکن است از یک گونه مخمر به گونه دیگر متفاوت باشد، مطالعات تمام عیار دیگری هم در این زمینه، در دیگر صنایع نانوایی ایران پیشنهاد می شود.

### منابع

Benedito, D. & Barber, C. (1989). Reversed phase high performance liquid chromatography analysis of changes in free amino acid during wheat bread dough fermentation, 66 (4), 283-288.

CIAA. (2009). The CIAA acrylamide toolbox for the reduction of acrylamide in flour: Confederation of the Food and Drink Industries, of the EU (CIAA). (Available from [www.ciaa.be](http://www.ciaa.be)).

Claceys, W. L. (2005). Effect of amino acid on acrylamide formation and elimination kinetics. *Biotechnology Progress*, 21 (5), 1525-1530.

Fredriksson و همکاران در سال ۲۰۰۴ مبنی بر کاهش ۹۰ درصدی آسپارژین در تخمیر طولانی (۳۶۰ دقیقه)، همسو بود (Fredriksson *et al.*, 2004)، اما با نتیجه حاصل از تحقیقات Claceys و همکاران در سال ۲۰۰۵ مبنی بر عدم کاهش آسپارژین تا ۵/۵ ساعت بعد از تخمیر، نا همسو بود (Claceys, 2005). هم چنین با بخشی دیگر از نتایج تحقیقات انجام شده توسط Fredriksson و همکاران در سال ۲۰۰۴ مبنی بر کاهش ۹۷ درصدی آسپارژین، در شرایط آزمایشگاه، همسو بود (Fredriksson *et al.*, 2004)، و نیز با نتیجه حاصل از مطالعات Benedito در سال ۱۹۸۹ مبنی بر اینکه کاهش آسپارژین آزاد بعد از ۳۶۰ دقیقه تخمیر افزایش می یابد، همسوئی دارد (Benedito, 1989)، علاوه بر این با نتیجه مطالعه Claus و همکاران در سال ۲۰۰۸ در مقیاس آزمایشگاهی و نیمه صنعتی مبنی بر اینکه با افزایش زمان تخمیر مصرف آسپارژین آزاد توسط مخمر افزایش نشان می دهد، همسوئی دارد (Claus, 2008).

یافته مهم دیگر تحقیق، کاهش ۹۹ درصدی آسپارژین خمیر در مدت ۳۶۰ دقیقه بعد از تخمیر بود که این نتیجه با نتایج بدست آمده از مطالعات Fredriksson و همکاران در سال ۲۰۰۴ مبنی بر اینکه، تخمیر خمیر گندم و چاودار، به طور معنی داری منجر به کاهش آسپارژین آزاد می شود، و تخمیر طولانی خمیر آرد کامل گندم، منجر به کاهش ۷۲ و ۷۷ درصدی سطح آسپارژین در خمیر نان در مقایسه با تخمیر کوتاه مدت می شود، همسو بود (Fredriksson *et al.*, 2004). نتایج بدست آمده نشان می دهد که با افزایش زمان تخمیر میزان کاهش آسپارژین آزاد در خمیر افزایش می یابد، که این کاهش را می توان به مصرف آسپارژین آزاد، توسط مخمر نسبت داد. یافته مهم دیگر در تحقیق حاضر، انتخاب زمان ۱۱۰ دقیقه به عنوان مناسب ترین زمان، برای پایان تخمیر مخمیری، و کاهش معنی دار آسپارژین، در خمیر نان سنگک می باشد، که این نتیجه با نتایج مطالعات انجام شده، توسط Fredriksson و همکاران در سال ۲۰۰۴، Hamlet و Sadd در سال ۲۰۰۵ و Claus در سال ۲۰۰۸، مبنی بر اینکه، اگر زمان تخمیر بیش از ۱۲۰ دقیقه ادامه یابد، باعث بروز آثار منفی از جمله؛ تخریب و تجزیه شبکه پروتئینی گلوتن، از دست رفتن قابلیت پذیرش خمیر و تولید ایزومرهای

- Claus, A. (2006). Influence of agronomic factors and extraction rate on the acrylamide contents in yeast-leavened breads. *Journal Food Chemistry*, 54 (23), 9876 - 9886.
- Claus, A. (2008). Acrylamide in cereal products: A review. *Journal of Cereal science*, 47 (2), 118 - 133.
- Claus, A. (2008). Impact of formulation and technological factors on the acrylamide content of wheat bread and bread rolls. *Journal of Cereal Science*, 47 (3), 546-554.
- Edoardo, C. (2009). Effect of flour type on Maillard reaction and acrylamide formation during toasting of bread crisp model systems and mitigation strategies, *Food Research International*, 42 (9), 1295 - 1302
- Faridi, H. A. & Finney, P. (1980). Technical and Nutritional aspects of Iranian Breads *Bakers Digest*, 54 (5), 18- 22.
- Fredriksson, H., Tallving, J., Rosen, J. & Aman, P. (2004). Fermentation reduces free asparagine in dough and acrylamide content in bread. *Cereal Chemistry*, 81 (?), 650-653.
- Lingnert, H. (2002). Acrylamide in food: Mechanisms of formation and influencing factors during heating of food. *Scandinavian Journal of Nutrition*, 46 (4), 159- 172.
- Low, M. (2006). Effect of citric acid and lysine addition on acrylamide and flavor in a potato model system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54 (16), 5976 - 5983.
- Mucci, L. A. (2003). Dietary acrylamide and cancer of the large bowel, kidney, and bladder. *British Journal of Cancer*, (88), 1, 84-89.
- Mucci, L. A. (2005). Acrylamide intake and breast cancer risk in Swedish women. *Journal of the American Medical Association*, 293 (11), 1326-1327.
- Ono, H. Chuda, Y. & Ohnishi, K. M. (2003). Analysis of acrylamide by LC-MS/MS and GC-MS in processed Japanese foods *Food Additives and Contaminants*, 20 (3), 215 - 220
- Richmond, P. (2007). Acrylamide in food. *Lancet*, 361 (2), 361- 362.
- Sadd, P. & Hamlet, C. (2005). The formation of acrylamide in UK cereal products. *Journal Food Chemistry* (pp. 415-430).
- Springer, M., Fischer, T., Le rack, A. & Freund, W. (2003). Development of Acrylamide in baked products. *Getride, Mehl und Brot*, 57 (5), 274 - 278.
- Stadler, R. H., Blank, I. & Varga, N. (2002). Acrylamide from Maillard reaction products. *Nature*, 419 (6906), 449 - 450.
- Swenson, K. (2003). Dietary intake of acrylamide in Sweden *Food Chemistry Toxicology*, 41 (11), 1581-1586.
- Tareke, E., Rydberg, P. & Karlsson, P. (2002). Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated food stuffs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (17), 4998 - 5006.
- Vass, M., Amrein, T. M., Schoanbaa chler, B., Escher, F. & Amado, R. (2004). Ways to reduce Acryl amide formation in cracker products. *Czech Journal of Food Science*, 22 (Special Issue), 19 - 21.
- Wang, A., Lee, S. & Shuang, M. (2008). HPLC studies on acrylamid in deep- fried fluor-based indigenous Chinese food, *Journal of Microchemical*, 89 (?), 90-97.
- Zamani, J. (2008). A novel feeding method in commercial Baker's yeast production, *Journal of Applied Microbiology*, 105 (3), 674 - 680.